

**PSZICHÓZIS ÉS ANTIPSZICHOTIKUMOK  
VIZSGÁLATA NEUROKÉMIAI ÉS VISELKEDÉS  
FARMAKOLÓGIAI MÓDSZEREKKEL**

*Doktori értekezés tézisei*

**Nagy Katalin**

**Eötvös Loránd Tudományegyetem, Természettudományi Kar**

**Biológiai Doktori Iskola**

*Ideg tudomány és humánbiológia*

Erdei Anna DSc.

Détári László DSc.

**Ifj. Dr. Hársing László Gábor**

MD, PhD, DSc., Med. Habil

**2015**

## BEVEZETÉS

A skizofrénia a népesség kb. 1%-át érinti, melyből kb. 10% követ el öngyilkossági kísérletet az élete során. A betegség kialakulásában szerepet játszanak mind genetikai, mind környezeti tényezők. A betegség kezelését nagyban elősegíti a 2013-ban kiadott DSM-V, mely a diagnosztizálást új alapokra helyezte [Heckers és mtsai, 2013; Bhati, 2013].

A skizofrénia három tünetegyüttesét különíthetjük el, a pozitív, a negatív és a kognitív tüneteket [Kapur és Mamo, 2003; Lieberman és mtsai, 2005]. Az elsőgenerációs antipszichotikumok a pozitív tüneteket javították, majd a klozapin megjelenésével új terápiás irány nyílt a negatív tünetek befolyásolásával és kevesebb mellékhatással. A kognitív tünetek befolyásolása jelenleg nem kielégítően megoldott.

A skizofrénia neurokémiai elméletei a dopamin (DA), a szerotonin (5-HT) és a glutamát elmélet. A dopamin elmélet a legkorábbi és legtöbb evidenciával bíró elmélet. Az elmélet szerint az antipszichotikus hatás kiváltásához a D<sub>2</sub> receptor antagonizmus nélkülözhetetlen és a betegség során a centrális DA rendszer regionális kiegyensúlyozatlanságáról beszélhetünk [Hertel és mtsai, 1995]. A szerotonin elmélet a klozapin megjelenésével alakult ki, a figyelem az 5-HT<sub>2A</sub> receptorok gátlására terelődött [Meltzer és mtsai, 1989, 2003]. A klozapin hatásosnak bizonyult a skizofrénia negatív tünetei esetében is az első generációs gyógyszerek extrapiramidális (EPS) mellékhatásai nélkül. Ezután a fejlesztések a multireceptorális kötődésű antipszichotikus vegyületek (MARTA) irányába fordultak. A skizofrénia glutamát elmélete szerint az NMDA receptor alulműködése játszik alapvető szerepet a patomechanizmusban, főleg a negatív és a kognitív tünetek kialakulásában [Javitt és mtsai, 1987, 2004, 2005]. Az NMDA receptorok szabályzásában szerepet játszó glicin szinteket az agyban a glicin transzporterek (GlyT) szabályozzák [Dingledine és mtsai, 1990]. Az NMDA receptorok potenciózására glicin transzporter gátlókat fejlesztettek, amelynek hatására megnő a glicin koncentráció a szinaptikus résben.

A GlyT inhibitorok egy új irány volt az antipszichotikumok fejlesztésében, mely azonban az ígéretes kezdeti eredmények ellenére nem bizonyított eléggé a hatásosság területén ezért az ilyen mechanizmusú gyógyszerek fejlesztése elindult az adjuváns fejlesztés irányába.

Az Egis Gyógyszergyár Zrt. tradicionális kutatási területe a központi idegrendszerre ható szerek, ezen belül a neuroleptikumok kutatása. A jelen dolgozatban is tárgyalt Egis-11150 egy új típusú antipszichotikus hatású molekula, amely számos a skizofrénia pozitív és negatív tüneteit modellező teszten kiemelkedő hatékonyságának mutatkozott, és jelentős prokognitív hatása is mérhető volt [Gacsályi és mtsai, 2013].

## CÉLKITŰZÉSEK

Dolgozatomban az Egis-11150, a forgalomban lévő risperidon, és a glicin transzporter gátló molekula, az ORG-24461, valamint risperidon kombinációjának vizsgálatát mutatom be különböző modelleken.

Céljaim a következők:

1. Az Egis-11150 jelű molekula receptor profiljának meghatározása, továbbá agonista vagy antagonisták karakterének meghatározása funkcionális in vitro modellekben.

2. Az Egis-11150 receptor profiljának összevetése saját eredmények, és irodalmi adatok alapján a risperidon és az ORG-24461 receptor profiljával.
3. Az Egis-11150 és a risperidon hatásainak vizsgálata antipszichotikumok vizsgálatára alkalmas in vivo modellekben.
4. Az Egis-11150, a risperidon és az ORG-24461 hatásainak összehasonlítása irodalmi és saját mérések alapján a skizofréria in vivo experimentális modelljeiben.
5. Az Egis-11150 és a risperidon vizsgálata prokognitív hatások predikciójára alkalmas modellben.
6. A risperidon és az ORG-24461 kombinációjának vizsgálata antipszichotikumok vizsgálatára alkalmas in vivo modellekben.
7. A risperidon és az ORG-24461 kombinációjának vizsgálata prokognitív hatások predikciójára alkalmas modellben.
8. Az Egis-11150, a risperidon és az ORG-24461 hatásainak vizsgálata a striatális dopamin, DOPAC, HVA, glutamát és glicin szintekre agyi mikrodialízis módszerrel.
9. A risperidon és az ORG-24461 kombinációjának vizsgálata a striatális dopamin, DOPAC, HVA, glutamát és glicin szintekre agyi mikrodialízis módszerrel.

## MÓDSZEREK

### Receptorkötési vizsgálatok

A receptorkötési vizsgálatok  $10^{-5}$  és  $10^{-7}$  M koncentrációban az Egis-11150 esetében több mint 50 receptoron történtek meg. A risperidon és az ORG-24461 esetében 11 receptoron (NMDA, 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>2A</sub>, 5-HT<sub>2C</sub>, 5-HT<sub>6</sub>, 5-HT<sub>7</sub>,  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$ , D<sub>1</sub> és D<sub>2</sub>) történtek meg a vizsgálatok, szintén  $10^{-5}$  és  $10^{-7}$  M koncentrációban. Azon eredmények esetében ahol  $10^{-7}$  M koncentrációban 50%-ot elérte a kötődés gátlás mértéke, K<sub>i</sub> érték meghatározása történt.

### [<sup>3</sup>H]glicin felvétel mérése patkány agykérgi szinaptoszómán

A szinaptoszóma P<sub>2</sub> frakciót korábban már leírt módszer alapján készítettük [Szász és mtsai, 2005]. A glicin felvételt 0,3  $\mu$ M [<sup>3</sup>H]glicin (specifikus aktivitás: 14 Ci/mM) hozzáadásával indítottuk el. A 0,3  $\mu$ M glicin koncentráció eléréséhez a [<sup>3</sup>H]glicinhez jelöletlen glicint adagoltunk. A specifikus glicin felvétel értékét a teljes felvétel és a nem-specifikus felvétel különbsége adta. Minden egyes vegyület koncentrációval három párhuzamos mérést végeztünk. A preparátumok fehérje koncentrációját Lowry módszerével határoztuk meg CuEDTA felhasználásával [Lowry és mtsai, 1951]. Az IC<sub>50</sub> értékeket nem-lineáris regresszióval számoltuk.

### In vivo mikrodialízis technika éber patkányon

A műtétet pentobarbital altatásban (60mg/kg ip.) sztereotaxis készülékben végeztük (David Kopf Instruments, USA) rögzítettük. A fejtetőn a sutura sagittális felett a csonthártyát szikével átmetszettük és megtisztítottuk a koponyacsont felszínét. A lokalizációnak megfelelően [Paxinos és Watson, 1998] AP (antero-poszterior): -0,4 és ML (medio-laterális): +3,5, a bejelölt ponton átfúrtuk a koponyát. Ezután a kanült a kijelölt fúrt lyukon keresztül a kívánt mélységig bevezettük, DV (dorso-ventrális): -4,0, majd rögzítettük. A műtét másnapján a kanülön keresztül bevezettük a 2 mm hosszúságú dialízis membránt a striátumba. Két óras ekvibrálás után 10 darab 30 perces frakció mintáit gyűjtöttük össze. A negyedik frakció legyűjtése után történt a risperidon (1 mg/kg), Egis-11150 (0,1 mg/kg), ORG-24461 (10 mg/kg), vagy risperidon és ORG-24461 kombinációs intraperitoneális (ip.) kezelés. A

katekolaminokat és azok metabolitjait [dopamin (DA), 3,4-dihidroxi-fenilecetsav (DOPAC) és homovanillinsav (HVA)] a mintagyűjtés után azonnal megmértük [Adams és Marsden, 1982], majd a mintákat lefagyaszttuk -80 °C-ra, és később mértük az extracelluláris aminosavak koncentrációját [Rowley és mtsai, 1995]. Később az agyakat szövettanilag feldolgoztuk, hogy ellenőrizzük a dialízis membrán pozícióját.

### **Apomorfín indukálta sztereotípiák és mászás teszt egereken**

Az Egis-11150, a risperidon és a vivőanyag (0,4% MC) adagolása orálisan történt. 30 perccel az orális kezelést követően az egereket egyesével a kísérleti drótháló ketrecbe helyeztük habituáció céljából. Újabb 30 perc múlva az állatoknak 1 mg/kg apomorfint adagoltuk szubkután (sc.). A sztereotípiák magatartásformák mérése azonnal az apomorfín kezelést követően kezdődött, és 25 percen keresztül folytatódott. A sztereotíp magatartás formák pontozása 0-4 fokozatú skálán történt. A mászás viselkedés regisztrálása igen/nem alapon 15 perccel az apomorfín adagolása után történt 10 percen keresztül. A sztereotípiák esetében az  $ID_{50}$  értékeket lineáris regresszió analízissel a %-os gátlás értékekből számoltuk.

A mászások értékelésénél gyakoriságot számoltunk csoportonként, a kontroll csoport értékeit 100%-nak tekintve. Amennyiben lehetséges volt, Litchfield és Wilcoxon módszerével [Litchfield és Wilcoxon, 1949]  $ED_{50}$  értékeket határoztunk meg.

### **Katalepszia indukáló hatás vizsgálata patkányokon**

A katalepszia indukáló hatást Morpurgo [Morpurgo, 1962] módszere szerint végeztük. Az Egis-11150, a risperidon és a vivőanyag (0,4% MC) adagolása orálisan történt 60 perccel a vizsgálat kezdete előtt. A patkányok mindkét mellső lábát egy 3,5 cm és egy 9,5 cm magas gumihengerre helyeztük lábanként. Ezt követően 10 másodpercen keresztül figyeltük, hogy a patkány elhúzza-e a lábát. Az állatokat 4 órán keresztül 30 percenként pontoztuk. Pontmaximumot állapítottunk meg csoportonként, amelyet a %-os hatás kalkulálásához használtunk. A %-os értékekből  $AD_{50}$  ( $AD$ =aktív dózis) értéket határoztunk meg lineáris regresszió módszerének segítségével.

### **Spontán motoros aktivitásra gyakorolt hatás vizsgálata patkányokon**

A patkányokat a vizsgálati anyagokkal történt kezelést követően 15 percre a kísérleti dobozok közepére helyeztük. A kezelések MK-801-gyel szubkután (sc.), risperidonnal orálisan (p.o.), Egis-11150-nel és az ORG-24461-gyel ip. történtek, 30 vagy 60 perccel az állatok dobozba helyezése előtt. A doboz belsejét a két rövidebb oldallal párhuzamos infrasugár keresztezi. A dobozba helyezett patkányok mozgása az infrasugarak keresztezését eredményezi, amely arányos a mozgásaktivitás mértékével.

### **MK-801 indukálta mozgásaktivitás fokozódásra gyakorolt hatás vizsgálata patkányokon**

A vizsgálat ugyanabban a készülékben történt, mint a spontán motoros aktivitás mérése. Az Egis-11150 és a risperidon kezelés ip., az MK-801 kezelés sc. egy időben, 30 perccel a mérés előtt, míg az ORG-24461 kezelés ip. 60 perccel a mozgásaktivitás mérése előtt történt. Az interakciós vizsgálat esetében (risperidon+ORG-24461) az ORG-24461 kezelés 30 perccel a risperidon és az MK-801 kezelés előtt történt. A risperidon és az MK-801 kezelést követően 30 perc múlva kezdődött a mérés a készülékben. Az aktivitás mérése 15 percig tartott.

### **Fenciklidinnel (PCP) kiváltott előingerlés gátlásra (PPI) gyakorolt hatás vizsgálata egereken**

A vizsgálatokat a TSE „összerezenés” vizsgáló készülékében (TSE startle response system, TSE GmbH, Németország), végeztük. Az Egis-11150 és a risperidon kezelés ip. 30 perccel a sc. PCP kezeléssel egyidőben, az ORG-24461 60 perccel a mérés megkezdése előtt történt. Az interakciós vizsgálat esetében (risperidon+ORG-24461) az ORG-24461 kezelés ip. 60 perccel, a szintén ip. risperidon és a sc. PCP kezelés pedig 30 perccel a mérés megkezdése előtt történt. Kísérleteinkben 65dB-es háttérzajt, 110dB-es hangimpulzust (pulse) alkalmaztunk. A mérés 5 perces akklimatizációs periódussal kezdődött ahol csak háttérzajt (65dB) exponáltunk. Ezt követte 5 hangimpulzus (110dB) exponálása (40ms/impulzus). Az előingerléses gátlás méréséhez ezután 60 próbát alkalmaztunk. A PPI szintet (%) a következő képlet segítségével kalkuláltuk:  $100 - [(\text{előingerlés}/\text{nincs előingerlés}) \times 100]$ . A statisztikai analízis egy szempontos variancia analízis után Dunnett-tesztel történt.

### **Prokognitív hatás vizsgálata új tárgyfelismerés teszten**

Vizsgálatainkat fekete plexi dobozokban végeztük, amelyeknek az alján faforgács volt. A felhasznált tárgyak fém gúla (8,5x5x14 cm) és fém hasáb (5x5x14 cm) voltak. Az állatokat a kísérlet első napján egyesével a dobozba helyeztük 2,5 percre tárgyak nélkül (dobozhoz szoktatás). 24 óra elteltével két azonos tárgyat helyeztünk el a dobozokban és egyesével visszatettük az állatokat a kísérleti dobozokba (akvizíciós fázis), maximum 5 percre. Amennyiben az állatok legalább 10-10 másodpercen keresztül „tanulmányozták” (exploráció) a tárgyakat egyenként, az állatokat kivettük a dobozból és visszahelyeztük a saját lakóketrecükbe. Amennyiben az állatok az 5 perces periódus alatt nem teljesítették a 10-10 másodperces kritériumot, a kísérletből kizártuk, alacsony érdeklődés (motiváció hiánya) miatt. Explorációnak tekintettük, amennyiben a patkány legalább 2 cm-re megközelítve a tárgyat szaglászta, megérintette, és határozott érdeklődést mutatott iránta. A harmadik mérési periódus (retenciós fázis) vagy 24 óra múlva (Egis-11150, risperidon önállóan adagolva) vagy az MK-801 kezeléssel történt vizsgálatok esetében 15 perc elteltével történt. Ebben a mérési szakaszban, kicseréltük az egyik előző tárgyat egy új tárgyra, és az állatokat visszahelyezve manuálisan mértük a tárgyankénti explorációs időt 4 percen keresztül. Az összes drogkezelés a második mérési napon az akvizíciós próba előtt történt. Az önálló hatások vizsgálata (Egis-11150, risperidon, MK-801) esetén p.o. kezelést alkalmazva 60 perc, ip. és sc. kezelést alkalmazva 30 perc volt az előkezelési idő. Az MK-801 interakciós vizsgálatban az MK-801 kezelés előtt 30 perccel történt az ORG-24461 adagolása. A risperidon+ORG-24461 vizsgálat esetében a risperidon kezelés (ip.) egyidőben történt az MK-801 (sc.) kezeléssel. Az eredmények statisztikai értékeléséhez diszkriminációs indexet (DI) számoltunk a következő képlet alapján:  $DI = (\text{új-régi})/(\text{új}+\text{rég})$ . A csoportonkénti adatokból egy szempontos variancia analízis után szignifikáns hatás esetén Dunnett-tesztet végeztünk. Az MK-801 interakciós vizsgálatok esetében az MK-801 csoportot Student t tesztel hasonlítottuk össze a vivőanyagot kapott csoporttal. Ebben az esetben a vizsgálandó anyaggal kezelt csoportok közötti különbségeket az MK-801-gyel kezelt csoporthoz viszonyítva hasonlítottuk össze egy szempontos variancia analízis elvégzése után szignifikáns hatás esetén Dunnett tesztel, az interakciós vizsgálat esetén pedig az összes csoportot hasonlítottuk össze egymással Tukey tesztel.

## EREDMÉNYEK (TÉZISEK) ÖSSZEFOGLALÁSA

### Receptorkötési vizsgálatok

Az Egis-11150 erős affinitást mutatott az  $ADR_{\alpha 1}$  ( $K_i = 0,5$  nM),  $ADR_{\alpha 2c}$  ( $K_i = 8,6$  és  $13$  nM),  $5-HT_{2A}$  ( $K_i = 3,2$  nM),  $5-HT_7$  ( $K_i = 8,4$  és  $9,9$  nM) receptorokhoz, míg közepesen vagy gyengén kötődött az  $ADR_{\alpha 2a}$  ( $K_i = 93$  és  $141$  nM),  $D_1$  ( $K_i = 370$  és  $380$  nM),  $D_2$  ( $K_i = 120$  nM),  $D_3$  ( $K_i = 370$  és  $380$  nM) és a  $D_4$  ( $K_i = 25$  és  $110$  nM) receptorokhoz.

A risperidon erősebben kötődött az  $ADR_{\alpha 1}$  ( $K_i = 1,6$  nM),  $5-HT_{2A}$  ( $K_i = 0,5$  nM),  $5-HT_7$  ( $K_i = 9,9$  nM), valamint a  $D_2$  ( $K_i = 3,4$  és  $6,7$  nM) receptorokhoz, mérsékelt kötődést mutatott a  $D_1$  ( $K_i = 150$  nM) receptorokhoz.

Az ORG-24461 nem mutatott jelentős kötődést egyik vizsgált receptorhoz sem.

A funkcionális vizsgálatok során az Egis-11150 gátolta az összes receptor fiziológiás agonistáját, melyekhez kötődött. A risperidonhoz hasonlóan az Egis-11150 is inverz agonistaként viselkedett az  $5-HT_{7A}$  receptoron [Gacsályi és mtsai, 2013].

### $[^3H]$ glicin felvétel mérése patkány agykérgi szinaptoszómán

Az ORG-24461 gátolta a  $[^3H]$ glicin felvételét a patkány agykéreg szinaptoszóma ( $P_2$ ) preparátumon, míg a risperidon nem.  $IC_{50}$  értékek: ORG-24461:  $1,3 \pm 0,1 \times 10^{-7}$  M és risperidon:  $>5,0 \times 10^{-5}$  M.

### In vivo mikrodialízis technika éber patkányon

A risperidon (1mg/kg ip.) emelte az DA és metabolitjainak (DOPAC és HVA) szintjét patkány striátumban, nem befolyásolta az extracelluláris glicin és glutamát szinteket. Az Egis-11150 (0,1mg/kg ip.) kezelés szelektíven megnövelte a DA koncentrációt a patkány striátumban, a dopamin metabolitok és az aminosavak koncentrációja a kezelés hatására nem változott. Az ORG-24461 (10mg/kg ip.) csökkentette a DA koncentrációt, a DOPAC és a HVA koncentrációt nem befolyásolta. Az extracelluláris glicin szintet kb. 2,5-szeresére növelte a striátumban.

Risperidon (1mg/kg) és ORG-24461 (10mg/kg) együttes beadása nem befolyásolta a DA koncentrációt a striátumban, a DA metabolitok szintjét enyhén emelte. A glicin és glutamát szint szintén növekedett a kombináció hatására.

### Apomorfín indukálta sztereotípiá, mászás és katalépszia

Az Egis-11150 és a risperidon gátolta az apomorfín által kiváltott mászást (Egis-11150: 0,06 mg/kg, risperidon 0,02 mg/kg). Az apomorfín sztereotípiát a risperidon egy nagyságrenddel alacsonyabb dózisban (0,08 mg/kg) gátolta, mint az Egis-11150 (0,2 mg/kg). A risperidon alacsonyabb dózisokban ( $AD_{50} = 1,3$  mg/kg) indukált katalépsziát az Egis-11150-hez képest ( $AD_{50} = 8,6$  mg/kg). Az ORG-24461 nincs hatással az apomorfín indukálta mászásra és sztereotípiára, valamint nincs kataléptogén hatása sem.

### Spontán motoros aktivitásra és az MK-801 (0,1mg/kg sc.) indukálta mozgásaktivitás fokozódásra gyakorolt hatás patkányokon

A risperidon (0,03mg/kg po.) szignifikánsan csökkentette az állatok normális aktivitását, míg az MK-801 motilitást fokozó hatását csak magasabb 0,1; 0,3 és 1 mg/kg dózisban gátolta. Az Egis-11150 az MK-801 által kiváltott hipermotilitást egy nagyságrenddel alacsonyabb dózisban felfüggesztette (0,03mg/kg ip.), mint a spontán motoros aktivitást. Az ORG-24461 10 és 30mg/kg ip. dózisban csökkenti szignifikánsan a spontán motoros aktivitást. Az MK-801 indukálta hipermotilitást 30 mg/kg dózisban függesztette fel.

Risperidonnal (0,03mg/kg ip.) együtt adva az ORG-24461 (3mg/kg ip.) szignifikánsan csökkentette az MK-801 által kiváltott motilitás növekedést.

### **Fenciklidinnel (5mg/kg sc.) kiváltott előingerlés gátlásra gyakorolt hatás egereken**

A risperidon (0,1mg/kg ip.) és az EGIS-11150 (0,03mg/kg ip.) szignifikánsan gátolta a PCP hatását a PPI modellben. Az ORG-24461 (1-3-10 mg/kg ip.) nem gátolta a PCP deficitet okozó hatását. Az ORG-24461 (1mg/kg ip.) hatástalan dózisait a risperidon (0,03mg/kg ip.) szintén hatástalan dózisaival kombinálva szignifikáns hatást eredményezett, visszafordítva a PCP PPI csökkentő hatását.

### **Prokognitív hatás vizsgálata új tárgyfelismerés teszten patkányon**

Az MK-801 dóziszfüggően és szignifikánsan (0,1mg/kg sc.) csökkentette a diszkriminációs (DI) indexet az új tárgy felismerési teszten. A risperidon önmagában adagolva nem bizonyult hatékonynak az adott modellben, az MK-801 (0,1mg/kg sc.) által lerontott memória funkciót (DI) azonban már 0,01 és 0,03 mg/kg dózisban képes volt javítani. Az Egis-11150 önmagában hatásosnak bizonyult (0,1 és 0,3mg/kg p.o.) a rövid távú felismerési memóriát mérő teszten. Az ORG-24461 (1mg/kg ip.) és a risperidon (0,1mg/kg ip.) szignifikánsan gátolta az MK-801 memória funkciót csökkentő hatását. A kombináció hatása több mint megduplázódott az egyenként adott molekulák hatásához képest.

## **KÖVETKEZTETÉSEK**

Az Egis-11150  $\alpha 1$ , 5-HT<sub>2A</sub>, D<sub>1</sub>-D<sub>4</sub>, 5-HT<sub>7</sub> antagonistá hatásainak szerepe lehet mind a pozitív, negatív és kognitív tünetekre gyakorolt hatások tekintetében. Vizsgálataink szerint az Egis-11150 jelentősen kedvezőbb receptorkötési profillal rendelkezik, mint a forgalomban lévő antipszichotikumok. Az ORG-24461 nem kötődött a vizsgált receptorokhoz. Hatását az NMDA receptor környezetében megemelt glicin koncentráció befolyásolásával magyarázhatjuk. A receptorkötési eredmények alapján a risperidon, mint ismert és jellegzetesen magas D<sub>2</sub> és 5-HT<sub>2A/2C/7</sub> kötéssel rendelkező vegyület, dopaminerg mellékhatás fokozása nélkül együttadható lehet a GlyT gátlókkal.

Az Egis-11150 általunk vizsgált neurotranszmitterekre gyakorolt hatása különbözik a risperidonétól. A dopamin szintet a risperidonhoz hasonlóan jelentősen megemelte a patkányok striátumában, a dopamin metabolitok szintjét viszont nem befolyásolta. Ez feltehetőleg a lényegesen kisebb D<sub>2</sub> receptorokhoz való kötődésének köszönhető. Az aminosavak szintjét az Egis-11150 a risperidonhoz hasonlóan nem befolyásolta, tehát a glutamát rendszerre a molekula méréseink szerint nincs direkt hatással.

Az ORG-24461 a mikrodialízis vizsgálatokban kapott eredmények szerint jelentősen csökkentette a DA szintjét, amely az NMDA receptor aktivációja által kiváltott GABA szint emelkedés következménye lehet, ami gátolja a striális DA felszabadulást [Javitt és mtsai, 2005; de Bartolomeis és mtsai, 2005]. A risperidonnal együtt adva pedig eltüntette a risperidon dopamin koncentrációt fokozó hatását, míg az ORG-24461 glicin szint emelő hatása megmaradt a kombinált adás során. A kombináció váratlan hatása volt az extracelluláris glutamát koncentráció megemelkedése a striátumban [Nagy és mtsai, 2010]. Az eredményeink azt mutatják, hogy a glicin kiváltotta glutamát felszabadulás a GlyT1 gátló jelenlétében felerősödik, ha a glutamáterg axonvégzódések gátlása blokkolódik az antipszichotikum által kiváltott párhuzamos D<sub>2</sub> receptor blokád következtében. Tehát a risperidon által a glutamáterg axon végzódéseken blokkolt D<sub>2</sub> receptorok és az ORG-24461 által blokkolt glicin transzporter-1 együtt okozhatják a megnövekedett striális glutamát felszabadulást. Megállapíthatjuk, hogy a GlyT1 gátló

vegyület és az antipszichotikum együttadása előnyösen befolyásolhatja a dopaminerg/glutamaterg egyensúlyt skizofréniában

Az Egis-11150 a risperidonhoz hasonlóan alacsony dózisban gátolta az apomorfin által kiváltott mászást, a sztereotípiát azonban egy nagyságrenddel magasabb dózisban blokkolta, ezért feltehetően nem, vagy kevésbé okoz extrapiramidális mellékhatásokat. Az Egis-11150 magasabb dózisokban váltott csak ki katalapsziát a risperidonhoz képest, vagyis ebben a vizsgálatban is bizonyítottan alacsonyabb az extrapiramidális mellékhatásokat kiváltó potenciálja a risperidonénál. Az apomorfin által kiváltott viselkedésválaszokra és a katalapsziára az ORG-24461 nem gyakorolt hatást.

A risperidon már önmagában is motoros aktivitás csökkenést okoz és ez a hatása érvényesül az MK-801 által kiváltott hipermotilitás csökkentésekor is. Az Egis-11150 a risperidonnal ellentétben már alacsonyabb dózisban csökkenti a hipermotilitást, mint a spontán motoros aktivitást, azaz hatása az MK-801 által kiváltott változást módosítja, ami direkt terápiás hatást jelenthet. Az ORG-24461 a risperidonhoz hasonlóan alacsonyabb dózisban gátolja a spontán motoros aktivitást, mint a hipermotilitást. Risperidonnal együtt adva, hatástalan dózisaikban, a kombináció szignifikáns hatást fejtett ki a hipermotilitás csökkentésében, tehát a kombinált kezelés fokozta mindkét vegyület önállóan mutatott hatását.

A PCP-vel lerontott PPI-t az Egis-11150 és a risperidon is szignifikánsan gátolta. Az ORG-24461 vizsgálatainkban a PCP hatását nem befolyásolta. A risperidon hatástalan dózisaival kombinációban azonban jelentős szignifikáns hatást mutatott a PCP-vel lerontott PPI gátlás tekintetében.

Az Egis-11150 már önmagában is képes volt igen alacsony dózisokban szignifikáns memóriajavító hatást mutatni az új tárgy felismerési teszten. A risperidon önmagában hatástalannak bizonyult, csak az MK-801 amnesztikus hatását gátolta. Nem zárható ki azonban, hogy az Egis-11150 önálló hatása a jobb agyi penetrációjával is összefügghet [*Gacsályi és mtsai, 2013*]. Az ORG-24461 molekula önmagában gyenge, de szignifikáns prokognitív hatást mutatott, viszont risperidonnal kombinálva jelentős prokognitív hatás erősödés jelentkezett, az MK-801 által kiváltott deficit helyreállításában. Ez a mikrodialízis, a PCP és más MK-801 interakciós vizsgálatokhoz hasonlóan további evidencia a kombináció előnyös terápiás hatására.

Összefoglalva, az Egis-11150 jelentős antipszichotikus aktivitást mutat, továbbá számottevő aktivitással rendelkezik a kognitív funkciót mérő modellekben. Az eredmények a risperidonhoz képest előnyösebb hatásprofilot mutatnak. Receptorprofilja a második generációs antipszichotikumok tekintetében a klopazinhoz áll közelebb, viszont nem rendelkezik antikolinerg mellékhatással.

A risperidon és a glicin transzporter gátló ORG-24461 kombinációja szintén terápiás előnyöket hordozhat a forgalomban lévő monoterápiás szerekkel szemben, mindhárom tünet együttes esetében.

Ebből a szempontból ugyancsak felmerülhet az Egis-11150 és az ORG-24461, valamint az Egis-11150 és az Egis Gyógyszergyár Zrt.-ben fejlesztett GlyT1 vegyületek [*Harsing és mtsai, 2015*] kombinációjának preklinikai vizsgálata neurokémiai és magatartásfarmakológiai módszerekkel.

## IRODALOMJEGYZÉK

Adams M, Marsden A, 1982; Handbook of Psychopharmacology, Vol.15, New Techniques in Psychopharmacology, Ch.1, 1-74

Bhati MT, 2013; Defining Psychosis: The Evolution of DSM-5 Schizophrenia Spectrum Disorders. Curr Psychiatry Rep., 15:409.



De Bartolomeis A, Fiore G, Iasevoli F, 2005; Dopamine-glutamate interaction and antipsychotics mechanism of action: implication for new pharmacological strategies in psychosis. *Curr Pharm Des.*, 11:3561–3594.

Dingledine R, Kleckner NW, McBain CJ, 1990; The glycine coagonist site of the NMDA receptor. *Adv Exp Med Biol.*, 268:17–26.

Heckers S, Barch DM, Bustillo J, Gaebel W, Gur R, Malaspina D, Owen MJ, Schultz S, Tandon R, Tsuang M, Van Os J, Carpenter W, 2013; Structure of the psychotic disorders classification in DSM 5. *Schizophrenia Research*, 150(1):11-4.

Hertel P, Mathé JM, Nomikos GG, Iurlo M, Mathé AA, Svensson TH, 1995; Effects of D-amphetamine and phencyclidine on behavior and extracellular concentrations of neurotensin and dopamine in the ventral striatum and the medial prefrontal cortex of the rat. *Behav Brain Res.*, 72(1-2):103-14.

Javitt DC, Balla A, Burch S, Suckow R, Xie S and Sershen H, 2004; Reversal of Phencyclidine-Induced Dopaminergic Dysregulation by N-Methyl-D-Aspartate Receptor/Glycine-site Agonists. *Neuropsychopharmacology*, 29, 300–307.

Javitt DC, Hashim A, Sershen H, 2005; Modulation of striatal dopamine release by glycine transport inhibitors. *Neuropsychopharmacology*, 30(4):649-56.

Javitt DC, Jotkowitz A, Sircar R, Zukin SR, 1987; Non-competitive regulation of phencyclidine/sigma-receptors by the N-methyl-D-aspartate receptor antagonist D-(-)-2-amino-5-phosphonovaleric acid. *Neurosci Lett.*, 78: 193–198.

Kapur S, Mamo D, 2003; Half a century of antipsychotics and still a central role for dopamine D2 receptors. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 27:1081–1090.

Lieberman JA, Stroup TS, McEvoy JP, Swartz MS, Rosenheck RA, Perkins DO, Keefe RS, Davis SM, Davis CE, Lebowitz BD, Severe J, Hsiao JK, 2005; Effectiveness of antipsychotic drugs in patients with chronic schizophrenia. *N Engl J Med.*, 353:1209–1223.

Litchfield JT Jr, Wilcoxon F, 1949; A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J Pharmacol Exp Ther.*, 96(2):99-113.

Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Randall NJ, 1951; Protein measurement with pholin phenol reagent. *J Biol Chem.*, 193:265–275

Meltzer HY, Matsubara S, Lee JC, 1989; Classification of typical and atypical antipsychotic drugs on the basis of dopamine D1, D2 and Serotonin2 pKi values. *J Pharmacol Exp Ther.*, 251:238–246.

Meltzer HY, Sumiyoshi T, 2003; Atypical antipsychotic drugs improve cognition in schizophrenia. *Biol Psychiatry*, 53: 265–267.

Morpurgo C, 1962; Effects of antiparkinson drugs on a phenothiazine-induced catatonic reaction. *Arch Int Pharmacodyn Ther.*, 1;137:84-90.

Paxinos G, Watson C, 1998; *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. New York, Academic Press

Rowley HL, Martin KF, Marsden CA, 1995; Determination of in vivo amino acid neurotransmitters by high-performance liquid chromatography with o-phthalaldehyde-sulphite derivatisation. *J Neurosci Methods*, 57:93–99.

Szasz BK, Mayer A, Zsilla G, Lendvai B, Vizi ES, Kiss JP, 2005; Carrier-mediated release of monoamines induced by nicotinic acetylcholine receptor agonist DMPP. *Neuropharmacology*, 49:400–409.

## **SAJÁT KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE**

Nagy K, Marko B, Zsilla G, Mátyus P, Pallagi K, Szabo G, Juranyi Zs, Barkoczy J, Levay Gy, Harsing LG Jr, 2010; Alterations in Brain Extracellular Dopamine and Glycine Levels Following Combined Administration of the Glycine Transporter Type-1 Inhibitor Org-24461 and Risperidone. *Neurochemical Research*, 35:2096-2106

Mátyus P, Hársing L G, Tapolcsányi P, Kocsis A, Czompa A, Szabó G, Barkóczy J, Nagy K, Zsilla G, 2011; New Glycine transporter inhibitors: design, synthesis and biological evaluation. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 44:(1) pp. 9-10.

Harsing LG Jr, Zsilla G, Mátyus P, Nagy KM, Marko B, Gyarmati Zs, Timar J, 2012; Interactions between glycine transporter type 1 (GlyT-1) and some inhibitor molecules Glycine - transporter type 1 and its inhibitors (Review). *Acta Physiologica Hungarica*, 99:(1) pp. 1-17.

Gacsalyi I, Nagy K, Pallagi K, Levay G, Harsing L.G. Jr, Moricz K, Kertesz S, Varga P, Haller J, Gigler G, Szenasi G, Barkoczy J, Biro J, Spedding M, Antoni FA, 2013; Egis-11150: A candidate antipsychotic compound with procognitive efficacy in rodents. *Neuropharmacology*, 64:(1) pp. 254-263.

Harsing LG, Jr., Timar J, Szabo G, Udvari Sz, Nagy KM, Marko B, Zsilla G, Czompa A, Tapolcsanyi P, Kocsis A, Matyus P, 2015; Sarcosine-Based Glycine Transporter Type-1 (GlyT-1) Inhibitors Containing Pyridazine Moiety: A Further Search for Drugs with Potential to Influence Schizophrenia Negative Symptoms. *Current Pharmaceutical Design*, 21, 2291-2303